



Title	慢性膵炎・膵臓がんの発症に寄与する Enterococcus faecalis の関与
Author(s)	下坂, 宗史
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105760
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (下坂 宗史)

論文題名 慢性膵炎・膵臓がんの発症に寄与する *Enterococcus faecalis* の関与

論文内容の要旨

膵がんは早期診断が困難であり、5年生存率はいまだ極めて低い予後不良ながんである。申請者が所属する研究室ではこれまでに、慢性膵炎および膵がん患者の膵液・膵組織から腸内常在菌 *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) が高頻度に検出されること、さらに膵液中において他の腸内細菌と比べて有意に生存・増殖しやすいことを報告してきた。また、膵機能が保たれた症例においても膵液中で有意に増殖できることから、同菌が膵管上皮を介して膵臓内へ侵入し、慢性炎症を惹起することで、潜在性慢性膵炎および膵がんの発症に寄与している可能性が示唆された。しかしながら、*E. faecalis* の膵管上皮細胞への感染メカニズムの解明並びに、本当に *E. faecalis* の投与により膵炎を引き起こせるかの検証には至っていない。

そこで本研究では、(1) *E. faecalis* の膵管上皮細胞への感染メカニズムの解明、(2) 臨床検体株の膵臓感染性および炎症惹起能の *in vivo* 検証を目的として行った。まず、膵がん患者由来の *E. faecalis* 臨床検体株 (OU1) と、実験室標準株 (JCM7783) を比較したところ、OU1株はヒト不死化膵管上皮細胞 (immortalized pancreatic epithelial cell, iPDEC) への接着・侵入能が有意に高いことが明らかとなった。エンドサイトーシス阻害実験により、OU1株はマクロピノサイトーシスおよびカベオラエンドサイトーシスを介して細胞内に侵入することが示された。さらに、tight junction を形成する MDCK 細胞シートを用いた解析により、コントロール株に較べて OU1株が上皮バリアを効率的に突破することが確認された。

RNA-seq 解析の結果、OU1株では接着因子である enterococcal fibronectin-binding protein A (EfbA) の発現がコントロール株に較べて亢進していた。EfbA はグラム陽性菌の病原因子として知られており、膵管上皮細胞への侵入菌数と EfbA 発現量との間に正の相関が認められた。さらに、EfbA の結合相手である fibronectin を欠損させた iPDEC を用いた実験では、OU1株の接着・侵入が有意に低下したことから、EfbA-fibronectin 相互作用を介した膵管上皮感染メカニズムの存在が明らかになった。

次に *in vivo* マウス感染モデルを用いて OU1株の膵臓感染性を評価した。蛍光標識菌を経口投与したマウスでは膵組織内に蛍光シグナルが検出され、培養および菌特異的 PCRにより膵臓への感染が確認された。短期感染モデルでは CD11b 陽性細胞の浸潤を伴う炎症反応が認められ、長期投与群では線維化を呈する慢性膵炎様の組織学的変化と、炎症性サイトカイン遺伝子 (*Il6*, *Tgfb*) の発現上昇が確認された。また、胃酸抑制薬 (proton pump inhibitor) の前投与は、細菌による膵炎惹起を増悪させた。

以上の結果を踏まえ、以下の仮説を提唱したい。まず、肥満による腹圧の亢進などを契機として腸内細菌の逆流が生じ、その中でもアルカリ耐性を有する *E. faecalis* が膵管内で選択的に生存・増殖する。さらに、EfbAを高発現する病原性 *E. faecalis* が、EfbA-fibronectin 相互作用を介して膵管上皮細胞に接着・侵入し、上皮バリアを突破して膵実質に到達することで膵炎を惹起する。この細菌感染によって誘導された慢性炎症は、肥満やアルコール摂取などの環境因子やがん遺伝子/がん抑制遺伝子の変異と相互に作用することによって増悪し、最終的に慢性膵炎・膵がんの発生につながるものである。

本研究は、*E. faecalis* が潜在性慢性膵炎を引き起こす可能性を示したものであり、膵がん高リスク群の同定や新規予防・介入戦略の開発に資する重要な知見を提供する。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (下坂宗史)			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教授	三 善 英 知
	副 査	教授	山 本 浩 文
	副 査	教授	岡 本 成 史

論文審査の結果の要旨

膵臓がんは現代医学の最大の難治がんである。膵臓がんの発症原因が不明で早期診断が困難なことが、その理由と考えられる。研究室の先行研究で、膵臓がん周囲の正常組織に高頻度に綿維化、炎症細胞の浸潤などの病理学的変化を伴う慢性膵炎が存在することがわかった (Pancreas 2014)。これらの患者には慢性膵炎の病名がないことから、私たちは潜在性慢性膵炎と呼んでいる。潜在性慢性膵炎の原因として細菌感染の可能性を調べたところ、患者膵液に高頻度でEnterococcus faecalis(E. faecalis)が検出され、一部の慢性膵炎、膵臓がん組織にE. faecalisが存在することを免疫組織染色で証明した (BBRC 2018)。本研究では、膵臓がん患者膵液から単離したE. faecalis (仮に病原性株と定義) が、多くの実験でコントロール株として使われている腸管共生株 (コントロール株) に比較して、そのような性質を持ち、実際に膵炎を引き起こすか否かを検討した。

病原性株はコントロール株に比較して、不死化正常膵管細胞に接着/侵入しやすいことがわかった。その原因を探るためRNA seq解析を行ったところ、病原性株には接着分子の1つであるEnterococcus faecalis binding protein A(EfbA)が高発現している事がわかった。この病原性株をマウスに胃酸抑制剤 (PPI) とともに経口投与したところ、短期間の投与で炎症細胞 (特にマクロファージ系の自然免疫細胞) の浸潤と炎症性サイトカインの発現誘導が見られた。病原性株を蛍光物質で標識し検討したところ、生きた細菌が膵臓の実質細胞に侵入している顕微鏡像が確認された。病原性株の長期間の投与では、膵臓の線維化が起こり、E. faecalisが長期に存在することで慢性膵炎の原因となることが証明できた。また胃酸抑制剤 (PPI) を投与しないと膵炎の誘導が軽減されたことから、近年歯周病などの原因となる口腔内細菌が膵臓がん組織に存在する理由の1つとして、PPIの内服が関与している可能性を示唆した。

以上の研究成果は国際的なジャーナル2報に掲載され、膵臓がん周囲に存在する潜在性慢性膵炎の原因としてE. faecalisの関与を示唆する極めて科学的価値が高い研究内容と言える。よって、博士 (保健学) の授与に十分値する研究成果と考えられる。